Aus dem Institut für Rechtsmedizin der

Johannes Gutenberg-Universität Mainz

UNTERSUCHUNG ZUR FRAGE DER FORENSISCH RELEVANTEN ÄTHANOLNEUBILDUNG IN BLUTPROBEN VON DIABETIKERN

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Würde des Doktorgrades der Medizin

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

dem Fachbereich Medizin

vorgelegt von

Kurt Eckes

aus Düsseldorf

Mainz 1984

Dekan: Professor Dr. Dr. W. Ketterl

1. Gutachter: Professor Dr. Leithoff

2. Gutachter: Dr. H.Th. Haffner

Tag der Promotion: 17. Oktober 1984

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG

Es ist schon lange bekannt, daß die alkoholische Gärung, die zur Herstellung berauschender Getränke dient, durch Mikroorganismen verursacht wird.

Der Alkohol entsteht als Endprodukt bei dem Aufbau von Glucose im Stoffwechsel dieser Mikroorganismen.

Für die Gerichtsmedizin sind diese Stoffwechselvorgänge von Bedeutung, wenn mikrobiell verunreinigte Blutproben zur Untersuchung gelangen. Dann muß nämlich beurteilt werden ob und in welchem Umfang eine Äthanolneubildung stattgefunden hat. Sehr oft ist dies bei Leichenblutproben der Fall und zum Problem der postmortalen Äthanolneubildung existiert deshalb eine umfangreiche Literatur.

Es ist aber auch möglich, daß bei der Öffnung der Blutentnahmegefäße zur Alkoholanalyse Luftkeime in die Blutprobe eindringen und dadurch in manchen Fällen bei anschließender längerer Lagerung eine Äthanolneubildung eintritt.

Prinzipiell können mikrobielle Verunreinigungen durch Luftkeime schon bei der Entnahme vorkommen, wenn das Restvakuum der Venüle mit Luft aufgefüllt wird, oder eine Abnahme mit der Spritze erfolgt.

Theoretisch diskutiert werden muß auch die Verunreinigung von Blutproben durch eine vorübergehende Bakteriämie. Besonders beim Diabetiker muß nach Joachim et al. (14) häufig mit einer Bakteriämie und vereinzelt mit dem Auftreten von Hefezellen im Blut gerechnet werden.

Nun sind die meisten Hefen in der Lage Glucose in höchst möglichem Ausmaß zu Äthanol abzubauen (Wüstendörfer, 56) und Glucose liegt im Diabetikerblut oftmals in weit höheren Konzentrationen vor als im Blut von gesunden Personen.

Aufgabe dieser Arbeit soll es sein, nachzuprüfen, ob es in zunächst alkoholfreien Blutproben von Diabetikern, bei denen das Ausgangssubstrat für eine mögliche Äthanolneubildung, nämlich Glucose, reichlich vorhanden ist, innerhalb des Zeitraums zwischen Blutentnahme und Analyse zu einer forensisch relevanten Äthanolbildung kommt.

II. LITERATURÜBERBLICK

Lange vor der Einführung der heute gebräuchlichen quantitativen Methoden zur Alkoholananlyse in die gerichtsmedizinische Praxis befaßte man sich schon mit der Frage der Äthanolneubildung bei Fäulnis.
Als einer der ersten stellte Béchamp (2) fest, daß das Destillat aus faulendem tierischen Fleisch höhere Mengen "Alkohol" aufwies als frisches Gewebe. Dieses Ergebnis bestätigte Landsberg (25) im Jahr 1904, indem er mit einer chemischen Methode frische und faulende Organe von Tieren auf ihren "Alkoholgehalt" untersuchte. Die Zunahme des Alkoholgehaltes bei Fäulnis führte er auf bakterielle Einwirkung zurück, ohne eigene bakteriologische Untersuchungen durchgeführt zu haben.
Ebenfalls mit einer chemischen Methode, die er selbst entwickelt hatte, fand Nicloux (35,36) heraus, daß auch in menschlichen Leichen unter Fäulnisbedingungen Alkohol entsteht. In den Geweben von 5 exhumierten Leichen, die er untersuchte, konnte er Konzentrationen bis über 1‰ mit seiner Methode messen.
Andere Autoren untersuchten mit der heute noch routinemäßig eingesetzten chemischen Widmark-Methode (55), die sich von der Niclouxschen Methode herleitet, zur selben Zeit die Veränderungen des Alkoholgehaltes von menschlichen Leichen oder gelagertem Leichenblut.
Wagner (50) stellte bei einer Untersuchung an 22 Leichen, deren Blut zunächst keinen Alkohol aufwiesen, nach einer erneuten Blutentnahme 7 bis 8 Tage später Widmark-Werte bis zu 0,63‰ fest.
Weinig (52) berichtete in einer ähnlich angelegten Arbeit über ein Ansteigen der Widmark-Werte im Leichenblut. In einem Fall beobachtete er ein Ansteigen des Widmark-Wertes um 0,81‰ nach dem 3. Tag.

Die von Kohn-Abrest und Truffert (20) und Wagner (50) beschriebenen Experimente mit unsteril aufbewahrten Blutproben (Schweineblut bzw. Leichenblut) ergaben bis zum 9. bzw. 6. Tag der Aufbewahrung keinen Anstieg der Reduktionswerte. Dagegen berichtet Elbel (8) und Lemmer (26) über einen Anstieg der Widmark-Werte bis auf 0,44‰ in zunächst alkoholfreiem, faulendem Schweineblut, das in Weckgläsern aufgehoben wurde. Yoshimoto (57) erwähnt, daß bei Verwendung des Niclouxschen Verfahrens mit einem Zunehmen des Alkoholgehaltes im Leichenblut in Höhe von 0,17‰ nach 240 h bei Zimmertemperatur gerechnet werden muß.

Die Bedeutung dieser ersten Befunde über den Anstieg der Alkoholwerte bei Fäulnis ist jedoch zweifelhaft, da die angewanden Methoden nicht spezifisch für Äthanol waren. Widmark (55) erklärt den Anstieg der Reduktionswerte bei Fäulnis mit der Bildung von flüchtigen, reduzierenden Substanzen, die bei der chemischen Analyse fälschlich als Reaktion des Alkohols auftreten.

Durch die Einführung der speziellen Fermentmethode mit ADH (4,6), die durch solche reduzierenden Substanzen nicht mehr beeinflußt wird, erhielt die Forschung neue Impulse zur Bearbeitung der Frage einer Alkoholneubildung durch Fäulnis.

Redetzki et al. (40) sowie Raulus und Janitzki (38) konnten mit der ADH-Methode bestätigen, daß unter Fäulnisbedingungen eine Alkoholbildung sowohl in Leichenblutproben als auch in der Leiche stattfindet. Bonnichsen et. al. (3) ermittelten in nicht gekühlten Leichen 24 - 48 h postmortal Alkoholkonzentrationen bis zu 2,3‰, obwohl "eine Ingestion von Alkohol vor dem Tode unwahrscheinlich erschien". Gormsen (11) gelang

die Isolierung verschiedener Keime (Bakterien, Hefen) aus dem Blut von Leichen und wies experimentell nach, daß diese Keime in der Lage sind aus Glucose Alkohol zu bilden.

Seit Entwicklung der ADH - Methode beschäftigten sich besonders Weinig und seine Schüler mit der Erforschung der postmortalen Alkoholbildung. Weinig et al. (53,54) führten vier Versuchsreihen mit Leichenbluten, die zunächst alkoholfrei waren, durch und konnten in einer Versuchsreihe nach 11 Tagen Lagerung bei Zimmertemperatur einen ADH-Wert von 0,64‰ messen. Sie halten sogar ein Ansteigen der Alkoholkonzentrationen um mehr als 1‰ für möglich, wenn anaerobe Bedingungen gegeben sind. Auf diese Möglichkeit hatte Schwerd (43) schon hingewiesen, als er bei der Analyse von menschlichen Leichenblutproben, die unter völligem Luftabschluß gelagert worden waren, mit einem Destillationsverfahren Konzentrationserhöhung über 1‰ feststellte.

Zu ähnlichen Ergebnissen, wie sie Weinig et al. (53,54) mitgeteilt hatten, kamen auch Osterhaus und Johannsmeier (37). Die vorgenannten Autoren wiesen auch darauf hin, daß der ADH-Wert bei Fäulnis keine absolute Gültigkeit hat. Mit Hilfe der Gaschromatographie, dem modernsten und spezifischsten Verfahren der gerichtsmedizinischen Alkoholanalyse, das eine Abtrennung des Äthylalkohols von den anderen bei Fäulnis entstehenden Substanzen ermöglicht, stellten sie fest, daß der ADH-Wert durch Fäulnisalkohole fälschlicherweise höher erscheint, als es dem Äthanolgehalt entspricht.

Weiler und Reh (51) untersuchten mit der Gaschromatographie 100 Fäulnis-

leichen mit unterschiedlicher Liegezeit. Ihre Untersuchungen ergaben, daß außer Fäulnisalkoholen wie n - Propanol, n - Butanol, iso - Propanol, iso -, secundärer und tertiärer Butanol, iso - Amylalkohol und Methylalkohol eine gleichzeitige Neubildung von Äthanol in Konzentrationen bis zu 0,5‰ auftritt.

In tierexperimentellen Untersuchungen konnten Mebs et al. (31) sogar Äthanolkonzentrationen bis zu 1,2 ‰ gaschromatographisch in bis zu 14 Tagen bei Zimmertemeratur gelagerten Tierkadavern nachweisen. Dabei traten im Gaschromatogramm nicht unerhebliche Konzentrationen von n-Propanol, einem Fäulnisalkohol, auf.

Insgesamt dürfte es sich nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung bei Erhöhung über 0,5‰ um Einzelfälle handeln, wobei offen bleibt ob dies der mögliche Maximalwert im Einzelfall ist.

Als Ursache der postmortalen Äthanolneubildung kann man zweifellos den mikrobiellen Umbau von Fetten, Eiweißen und Kohlehydraten zu Äthanol ansehen. Die dafür in Frage kommenden Mikroorganismen und ihre Stoffwechselprozesse sind bei Wüstendörfer (56) und Corry (7) beschrieben.

Als Einflußfaktoren für die Höhe der postmortalen Äthanolneubildung sind bisher beschrieben worden: 1) die Temperatur (14), 2) der pH-Wert (52), 3) anaerobe und aerobe Bedingungen (43), 4) die Art der mikrobiellen Besiedlung (40,45) und der Zuckergehalt des Blutes (14,31).

Nicht nur in Leichenbluten kann eine Neubildung von Äthanol beobachtet werden, sondern auch in einem gewissen Prozentsatz in länger gelagerten Frischblutproben.

So untersuchten Paulus und Janitzki (38) nicht steril aufbewahrte Frischblutproben und fanden innerhalb von 14 Tagen bei Zimmertemperatur einen ADH-Wert Anstieg von bis zu 0,16‰.

Krauland et al. (22) registrierten in 10 von 219 Blutproben, die zwischen 91 und 1045 Tagen bei Kühlhaustemperatur gelagert hatten, kleinere Steigerungen des Alkoholgehaltes, in einem Fall sogar um 0,41‰.

Iffland (13) führte mit der Gaschromatographie Nachuntersuchungen bei 2514 Venülenbluten, die zwischen drei Monaten und drei Jahren gelagert worden waren, durch und sah in 266 Blutproben Zunahmen der Alkoholkonzentration, die bis zu 0,3‰ betrugen.

Bei der Nachuntersuchung von 50 fluoridfreien Blutproben, die 12 Monate aufbewahrt worden waren, beobachtete Kissner (18) in 8 Fällen einen Anstieg des gaschromatographisch ermittelten Alkoholwertes, der bis zu 0,32‰ ausmachte.

Neuerdings konnten Schwerd und Hillermeier (46) bei Untersuchungen über die Veränderung des Alkoholgehaltes in Blutproben zwischen Entnahme und Untersuchung in Blutproben, die Trinkalkohol enthielten, bei ungünstigen Lagerungstemperaturen (40°C) gaschromatographisch Zunahmen bis zu 0,07‰ innerhalb von 7 Tagen ermitteln.

Auch bei Frischblutproben wird mikrobiellen Verunreinigungen, die Krauland et al. (22,23) in 30 % der länger gelagerten Blutproben nachweisen konnten, als Ursache dieser Veränderungen große Bedeutung zugemessen (Schwerd, Dimmling, Krebs, 44).

Diese Verunreinigung der Blutproben geschieht entweder bei der Öffnung der Blutentnahmegefäße zur Alkoholanalyse oder schon bei der Entnahme der Blutprobe.

Bei der Entnahme können z.B. Luftkeime eintreten, wenn die Venüle nur teilweise gefüllt und das Restvakuum mit Luft ausgefüllt wird. Ebenso ist eine Blutprobe nicht mehr als steril zu betrachten, wenn eine Entnahme mit der Spritze erfolgt und anschließend das Blut in die Venüle umgefüllt wird.

Theoretisch kann es auch durch eine vorübergehende Bakteriämie zu einer mikrobiellen Besiedlung des Blutes in der Blutprobe kommen. So schreibt z.B. Corry (7), daß "mit großer Sicherheit beim lebenden Menschen Bakterien in das Gewebe eindringen und manchmal in Blutproben und Biopsien nachweisbar sind".

Koneman und Davis (21) nehmen an, daß "gesunde Menschen ohne Zweifel täglich Episoden transitorischer Bakteriämie erfahren, deren Häufigkeit bei Krankheit erhöht ist".

Eintrittswege für diese Mikroorganismen sollen Haut und Intestinaltrakt sein (7).

Joachim et al. (14) erwähnen, daß "beim lebenden Diabetiker ständig mit einer gewissen Bakteriämie zu rechnen ist".

"Ferner sollen sich im Blut von Diabetikern zu Lebzeiten schon vereinzelt Hefezellen finden" (14).

Experimentell konnten Joachim et al. (14) in künstlichem Diabetikerblut (defibriniertes Schweineblut) mit Glucosekonzentrationen bis zu 330 mg% bei entsprechender Besiedlung mit Hefen eine Äthanolneubildung von mehr

als 1‰ innerhalb von 4 Tagen bei 37°C nachweisen, bevor Fäulnisalkohole auftraten, die als Hinweis für eine Äthanolneubildung gelten.
Meyer (34) untersuchte daraufhin die Blutproben von 100 stationär aufgenommenen Diabetikern, deren Blutzucker über 200 mg% betrug. Die zunächst von Trinkalkohol freien Blutproben zeigten in 22 Fällen nach einer Lagerungszeit von 14 Tagen bei Zimmertemeratur eine Äthanolneubildung, die bis zu 0,31 ‰ betrug.

Ausgehend von diesem Ergebnis sollte nun nachgeprüft werden, ob es bei Diabetikern, die noch am Straßenverkehr teilnehmen, in dem Zeitraum, der zwischen der Entnahme der Blutprobe und der Analyse liegt, zu einer ähnlich hohen Neubildung von Äthanol kommt.

Da in dieser Arbeit Blutproben untersucht werden, die zunächst keinen Trinkalkohol aufweisen sollen, wird in diesem Überblick anschließend noch auf den physiologischerweise im Blut vorkommenden Alkoholspiegel eingegangen.

Als Quelle dieses sogenannten endogenen Alkohols wird von einigen Autoren (28,42) der Stoffwechsel der intestinalen Mikroflora angegeben. Krebs und Perkins (24) ermittelten im Blut der V.porta von alkoholfrei ernährten Ratten Äthanolkonzentrationen bis zu 2,07 mg/l. Als sie die Ratten mit einer kohlehydratreichen Nahrung fütterten stiegen die Äthanolkonzentrationen in der V.porta auf bis zu 8,74 mg/l an, während sie bei Verfütterung von Antibiotika auf 0,46 mg/l absanken. Ebenfalls bewiesen werden konnte die Entstehung von Äthanol aus dem Glucosestoffwechsel unterschiedlicher Organe. Mc Manus et al (32) fanden bei

Experimenten mit Rattenlebern heraus, daß über einen bestimmten Stoffwechselschritt aus einem Abbauprodukt der Glucose Äthanol gebildet wird. Einen ähnlichen Stoffwechselschritt konnten dieselben Autoren (33) im Schweineherz nachweisen.

Die Konzentrationsangaben des endogenen Alkohols sind in der Literatur recht unterschiedlich.
Harger und Goss (12) fanden 1935 durch fraktionierte Destillation von Blut und anschließender Bestimmung des Reduktionswertes einen physiologischen Blutalkoholwert von 0,00027‰. Bei Nüchternblutanalysen von 130 Personen fand Alha (1) mit der Widmark-Methode einen Durchschnittswert von 0,018 ‰ und einen Maximalwert von 0,11 ‰. 37% der von ihm untersuchten Blutproben wiesen keinen mit der Widmark-Methode messbaren Alkohol auf. Bücher und Redetzki geben für den endogenen Alkohol einen Wert von 0,0024‰ an (6). Lester hingegen hielt nach gaschromatographischen Untersuchungen der Alveolarluft von nüchternen Personen (27) einen Maximalwert von 0,015‰ für wahrscheinlich.

Neuere Untersuchungen von Sprung et al. (48) an 130 Nüchternbluten mit einer speziellen gaschromatographischen Methode (5) ergaben jedoch wesentlich niedrigere Werte. Die meisten von ihnen ermittelten Werte liegen in der Größenordnung von 0,0001 bis 0,0002 ‰ und alle Werte sind kleiner als 0,0008‰. Eine gleichzeitig durchgeführte Untersuchung an 30 Personen mit Stoffwechselerkrankungen (darunter Diabetiker) ergab keinen signifikanten Unterschied zu den Werten, die bei den Stoffwechselgesunden gefunden worden waren.

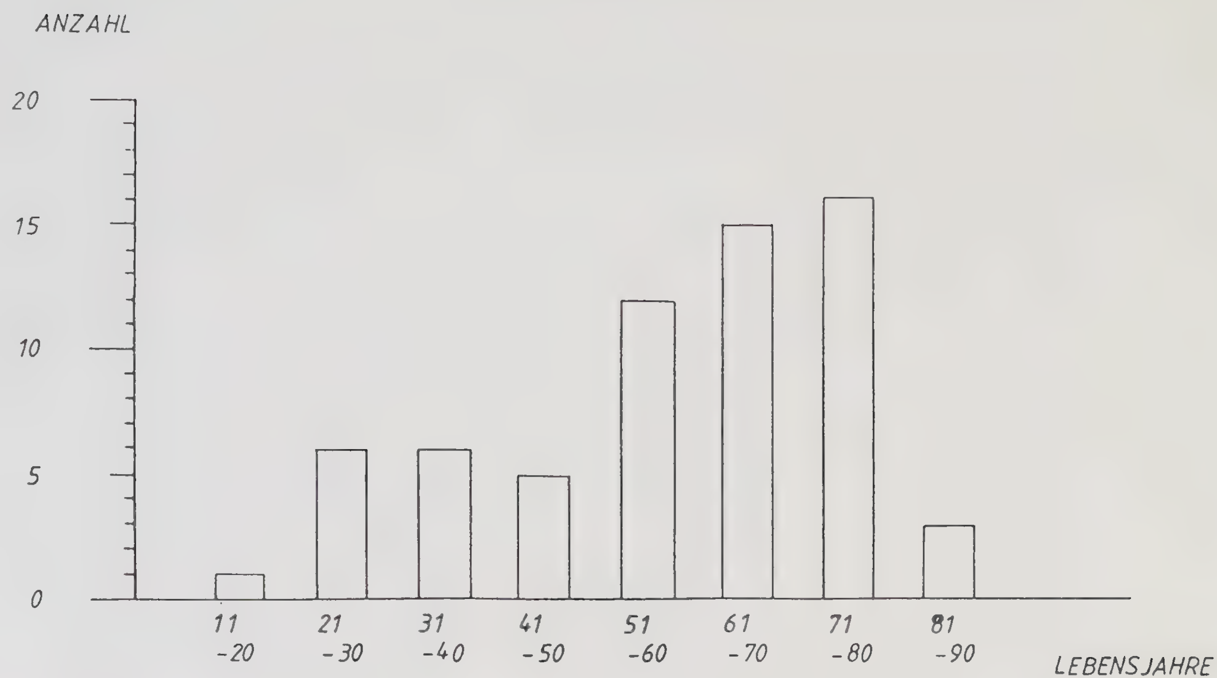
III. VERSUCHSGESTALTUNG

1. Auswahl des untersuchten Kollektivs

Ziel dieser Arbeit sollte es sein ein auf die gerichtsmedizinische Praxis übertragbares Ergebnis zu erhalten. Aus diesem Grunde schieden hospitalisierte Diabetiker als Versuchskollektiv aus, da sie oftmals wegen der Schwere des Krankheitsbildes nicht mehr frei handlungsfähig sind. Ebenfalls schieden Personen aus, die nur zeitweise eine Blutzuckererhöhung über das normale Maß hinaus haben, wie dies bei Streßdiabetikern oder latenten Diabetikern der Fall ist. Unter den Personen mit einem klinisch manifesten Diabetes mellitus sollten nur solche untersucht werden, deren Blutzucker erheblich über dem Normalwert liegt und bei denen aufgrund einer eventuellen Besiedlung des Blutes mit Keimen eine entsprechend hohe Neubildung von Äthanol zu erwarten war. Zusätzlich sollte der Diabetes mellitus schon über ein Jahr klinisch manifest sein, da erst bei längerem Bestehen dieser Erkrankung mit einer Hefebesiedlung der ableitenden Harnwege und damit mit dem Auftreten von Hefen im Blut zu rechnen ist.

Das nach diesen Kriterien ausgesuchte Versuchskollektiv, dessen Blutproben untersucht wurden, kann wie folgt beschrieben werden:
Es handelt sich um 64 Personen, 37 weibliche und 27 männliche , die entweder von der Diabetesambulanz der Johannes-Gutenberg Universität oder von einem niedergelassenen Allgemeinmediziner ärztlich betreut wurden. Der Blutzucker dieser Personen war bei der Entnahme der Blutproben in allen Fällen über dem als Mindestwert festgelegten Wert von 200 mg%. Das Alter der Versuchspersonen lag zwischen 20 und 87 Jahren, wobei es sich

Abb. 1 ALTERSVERTEILUNG VON 64 DIABETIKERN



sowohl um Diabetiker vom Jugendlichen -, als auch vom Erwachsenen - Typ handelte. Das Durchschnittsalter betrug 58,8 Jahre und die Erkrankungsdauer wurde zwischen einem Jahr und 18 Jahren angegeben.
In Abbildung 1 erfolgte eine Darstellung der Altersverteilung des Versuchskollektivs.

2. Gewinnung und Aufbewahrung der Proben

Jedem Probanden wurden 10 ml Blut unter sterilen Bedingungen mit einer Spritze aus einer Cubitalvene entnommen. Das Blut wurde zu gleichen Teilen in zwei saubere, jedoch nicht sterile Glasröhrchen umgefüllt und diese mit einem Gummistöpsel fest verschlossen. Auf die Verwendung von sterilen Glasröhrchen wurde verzichtet, da man davon ausgehen kann, daß ein Teil der Blutproben, die zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration eingesandt wurden, von vorneherein nicht mehr steril sind.
Die Verunreinigung der Blutproben geschieht entweder durch Spritzenentnahme und anschließendes Einbringen des Blutes in die Venüle oder durch Ansaugen von Luft, um das Restvakuum der Venüle aufzufüllen.
Eine Hälfte der auf diese Weise entnommenen Blutproben wurde nach dem Transport ins Labor zentrifugiert und noch am Entnahmetag auf Äthanol- und Glucosegehalt untersucht. Die zweite Hälfte der Blutproben blieb verschlossen und wurde 4 Tage bei Zimmertemperatur ($20^{o}C \pm 1^{o}C$) aufbewahrt, bevor die Messung der Äthanol- und Glucosekonzentration erfolgte. Der Zeitraum von 4 Tagen wurde gewählt, da mit der Post verschickte Blutproben normalerweise innerhalb dieses Zeitraumes im untersuchenden Labor angekommen sind und zur Alalyse gelangen.

3. Bestimmung der Glucosekonzentration

Zur Ermittlung des Glucosegehaltes wurden Doppelbestimmungen mit dem Glucose Analysator 2 der Firma Beckmann durchgeführt und daraus der Mittelwert gebildet.
Das Testprinzip beruht auf der polarimetischen Messung des Sauerstoffverbrauchs bei der enzymatischen Umsetzung von β-D-Glucose in Gegenwart von Glucoseoxidase (GOD).

Reaktionsgleichung:

(1) $\beta\text{-D-Glucose} + O_2 + H_2O \xrightleftharpoons{GOD} \text{D-Gluconsäure} + H_2O_2$

Der Sauerstoffverbrauch dabei ist proportional der Glucosekonzentration in der Probe (15). Das entstehende Wasserstoffsuperoxid wird in zwei Reaktionen umgesetzt, um das Entstehen von molekularem Sauerstoff zu verhindern (10).

Reaktionsgleichung:

(2) $H_2O_2 + \text{Äthanol} \xrightleftharpoons{Katalase} \text{Acetaldehyd} + H_2O$

(3) $H_2O_2 + 2H^+ + 2J^- \xrightleftharpoons{Mobdylän} J_2 + H_2O$

Das Enzymreagens für diese Methode besteht aus:
140 IU Glucoseoxidase pro ml Lösung, 5% denaturierter Äthanol, 0,01 mol/l KJ, 0,2 mol/l Phosphatpuffer, Katalase, Ammoniummobdylat und Jod.
Zur Eineichung des Geräts wurde das Kontrollserum Lab-trol E der Firma Merz und Dade verwendet.

Die Qualitätskontrolle wurde durchgeführt mit Precinorm U (Boehringer Mannheim) für den Normalwertbereich und mit QAB Chemistry Control für den pathologischen Bereich.

4. <u>Bestimmung der Äthanolkonzentration</u>

Die Äthanolkonzentration wurde durch Doppelbestimmung mit dem Gaschromatographen GC - Automat Multifrakt F 45 der Firma Perkin Elmer ermittelt. Dieser Automat arbeitet nach der von Machata (29) entwickelten Methode mit automatischer Probenentnahme aus der Gasphase und Bestimmung des darin enthaltenen Äthanols. Diese Methode, die auch als Head - space - Methode bezeichnet wird, benötigt nur sehr kleine Probenvolumina und zeichnet sich gegenüber den anderen Verfahren zur Alkoholanalyse durch ihre Spezifität aus (17). Das Gerät enthält eine 2 m Glassäule mit 0,2% Carbowax 1500 auf Carbopack C und einen Flammenionisationsdetektor. Als Trägergas dient nachgereinigter Stickstoff. Der Flammenionisationsdetektor arbeitet mit einer Flamme aus Wasserstoff und Luft. Die Abschwächung am Gerät beträgt 10 x 64. Für die Analyse werden 100 ul Serum und 100ul 0,05 % tertiärer Butanol als innerer Standard benötigt.

Die Substanzidentifizierung ergibt sich aus den Retentionszeiten. Die quantitative Auswertung erfolgt über eine Perkin Elmer Sigma 10 Datenstation.

In der Routine bewährt haben sich folgende Temperaturen:

Thermoblock des Probenwechseltisches	80°C
Injektionssystem	150°C
Ofen	120°C
Flammenionisationsdetektor	150°C

Zur Überprüfung der Genauigkeit und Reproduzierbarkeit dieser gaschromatographischen Methode bei sehr niedrigen Äthanolkonzentrationen wurde eine Lösung mit ungefähr 0,01‰ hergestellt. Danach wurden mit der obenbeschriebenen Methode hintereinander 30 Einzelanalysen dieser Lösung durchgeführt. Das Ergebnis dieser Meßreihe zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1: Meßreihe von 30 GC - Werten einer 0,01‰ Äthanollösung

Lauf Nr.	GC-Wert ‰	Lauf Nr.	GC-Wert ‰
1	0,0183	16	0,0313
2	0,0184	17	0,0271
3	0,0209	18	0,0283
4	0,0188	19	0,0284
5	0,0187	20	0,0351
6	0,0196	21	0,0274
7	0,0233	22	0,0335
8	0,0216	23	0,0269
9	0,0224	24	0,0194
10	0,0226	25	0,0189
11	0,0190	26	0,0191
12	0,0223	27	0,0195
13	0,0224	28	0,0186
14	0,0188	29	0,0188
15	0,0194	30	0,0193

Anhand dieser Meßreihe kann man sehen, daß die Angabe der Äthanolkonzentration durch das Gerät mit einem gewissen Fehler erfolgt. Dieser Fehler ist bedingt durch verschiedene Einzelfehler, wie z.B. Verdünnungsfehler, Pipettenfehler, Gerätefehler usw., die bei keiner Analyse vermieden werden können. Um die Größe des Fehlers in diesem Bereich zu ermitteln, bestimmt man den Mittelwert und die Standardabweichung der oben angegebenen Meßreihe.

Formeln zur Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung:

(1) Mittelwert

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{N}$$

(2) Standardabweichung

$$S = \sqrt{\frac{(X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

Dabei ist:

X_i = der einzelne Meßwert

$\sum X_i$ = Summe aller einzelnen Meßwerte

N = Anzahl der einzelnen Meßwerte

S = Standardabweichung

Im Bereich zwischen Mittelwert minus Standardabweichung und Mittelwert plus Standardabweichung liegen bei einer normalen Häufigkeitsverteilung, die auch bei unserer Meßreihe vorliegen dürfte, etwa 68 % aller Werte.

Als Grenze innerhalb der etwa 99 % aller Werte liegen, wenn sie bei gegebener Äthanolkonzentration allein durch den methodischen Fehler bedingt sind, bezeichnet man einen Bereich zwischen Mittelwert minus drei Standardabweichungen und Mittelwert plus drei Standardabweichungen.
Bei unserer Meßreihe ergaben sich als Mittelwert 0,0226 ‰ und als Standardabweichung 0,0048 ‰.
Daraus kann man ersehen, daß die Äthanolkonzentrationsbestimmung mit unserer gaschromatographischen Methode in der dritten Stelle hinter dem Komma sehr ungenau ist, da Differenzen, die in der dritten Stelle hinter dem Komma erscheinen, mühelos durch einen methodischen Fehler erklärt werden können.

Bei der folgenden Untersuchung sollen nur solche Differenzen in positiver Richtung als Äthanolneubildung gewertet werden, die mit hinreichender Sicherheit nicht durch einen methodischen Fehler erklärt werden können.

Deshalb wird eine Äthanolneubildung nur dann angenommen, wenn der Wert nach Lagerung um mehr als drei Standardabweichungen über dem Mittelwert der beiden Werte, die vor und nach Lagerung ermittelt werden, liegt.
Eine so große Abweichung vom Mittelwert kann nur in weniger als 1% der Fälle durch die Methode bedingt sein, so daß mit sehr großer Wahrscheinlichkeit wirklich ein höherer Äthanolwert vorliegt.
Bei unserer Methode können also erst Abweichungen vom Mittelwert, die über 0,0144 ‰ hinausgehen als mögliche Äthanolneubildung angesehen werden. Andernfalls erscheint eine Erklärung der Abweichung durch eine methodische Streuung der Einzelwerte um den Mittelwert noch als vertretbar.

IV. ERGEBNISSE

1. Veränderung der Glucosekonzentration

Die Ergebnisse der Blutglucosemessungen in den 64 Blutproben sind in Abbildung 2 dargestellt.
Es erfolgt eine gleichzeitige graphische Darstellung der Meßergebnisse des Entnahmetages und nach 4-tägiger Lagerung.
Am Entnahmetag wurden Meßwerte zwischen 201 mg% und 499 mg% Glucose beobachtet. Blutproben mit einem Glutglucosegehalt von weniger als 200 mg% waren aus den obengenannten Gründen nicht in dieser Arbeit untersucht worden. In Abbildung 2 macht sich diese Auswahl dadurch bemerkbar, daß die schwarzen Säulen, die die beobachteten Häufigkeiten am Entnahmetag zeigen, erst ab der Gruppe 201 - 250 mg% beginnen.

Die überwiegende Anzahl der Blutproben (n = 49) hatte eine Glucosekonzentration zwischen 201 mg% und 300 mg% am Entnahmetag. Grössere Konzentrationen als 300 mg% wurden in 15 Blutproben gemessen und der höchste am Entnahmetag beobachtete Wert war 499 mg%.
Als Mittelwert aller am Entnahmetag gemessenen Glucosewerte errechnet sich gerundet 277 mg%.

Aus Abbildung 2 kann man ersehen, daß höhere Glucosekonzentrationen seltener beobachtet wurden.
Eine Erklärung dafür ist einerseits das therapeutische Ziel die Glucosekonzentration beim Diabetes mellitus möglichst in einem Bereich zwischen 140 mg% und 180 mg% einzustellen, andererseits befinden sich Personen mit sehr hohen Blutzuckerkonzentrationen wegen der zu befürchtenden oder bereits eingetretenen Komplikationen nicht mehr in ambulan-

ter, sondern in stationärer Behandlung. Hier waren nur die Blutproben ambulant behandelter Diabetiker untersucht worden.

Nach 4-tägiger Lagerung zeigt Abbildung 2 eine andere Häufigkeitsverteilung der gemessenen Glucosekonzentrationen. Die Gruppe mit den am häufigsten registrierten Werten war die Gruppe 151 - 200 mg% (n = 21). Die meisten der gemessenen Glucosewerte waren kleiner als 200 mg% (n = 50). Der Mittelwert aller gemessenen Glucosewerte nach der Lagerung war mit 152 mg% (gerundet) deutlich kleiner als der Mittelwert am Entnahmetag.
Die in Abbildung 2 dargestellte Änderung der Häufigkeitsverteilung kann erklärt werden durch eine unterschiedliche Abnahme der Glucosekonzentration in den einzelnen Blutproben.

Ein Vergleich der Glucosekonzentrationen am Entnahmetag und nach 4-tägiger Lagerung wird in Abbildung 3 gezeigt. Außerdem kann bei der gewählten Darstellungsweise die unterschiedliche Glucoseabnahme in den einzelnen Blutproben abgelesen werden.

In einem Bereich dieser Graphik liegen die Punkte dichter, da bei der überwiegenden Zahl der Blutproben, die am Entnahmetag zwischen 200 mg% und 300 mg% Glucose enthielten in den meisten Fällen ein Rückgang zwischen 50 mg% und 150 mg% auftrat.
Von den 49 Blutproben mit einem Blutglucosegehalt zwischen 200 mg% und 300 mg% am Entnahmetag enthielten 42 Blutproben nach der Lagerung zwischen 50 mg% und 150 mg% weniger Glucose.

Abb. 2 GLUCOSEKONZENTRATION IM DIABETIKERBLUT, GEMESSEN NACH BLUTENTNAHME UND NACH 4 TÄGIGER LAGERUNG BEI ZIMMERTEMPERATUR (n = 64)

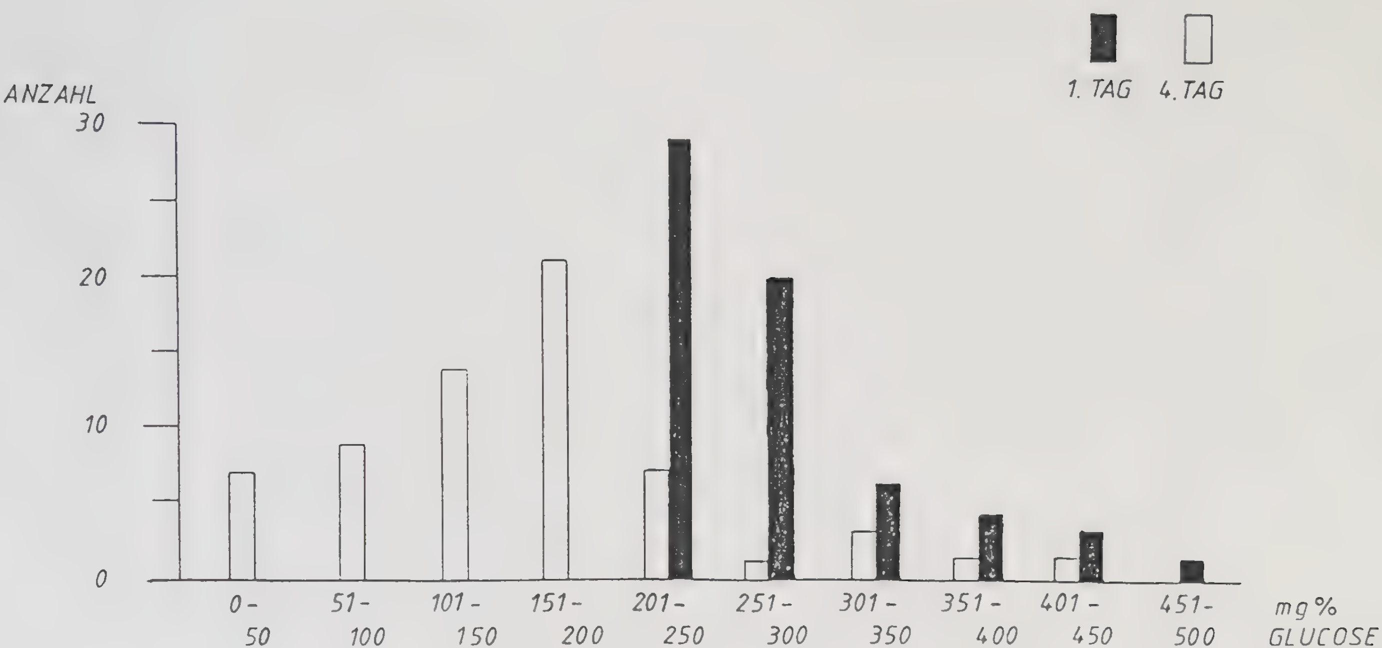
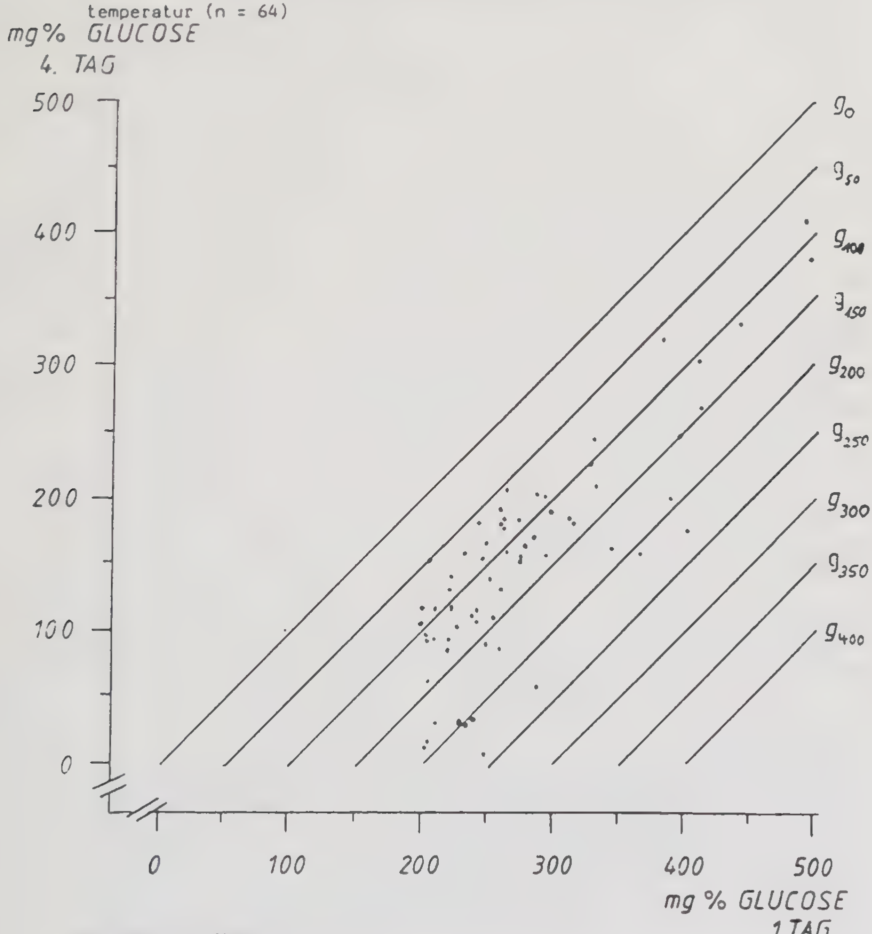


Abb. 3

Vergleich zwischen der Blutglucosekonzentration des Diabetikerkollektivs am Entnahmetag und nach 4-tägiger Lagerung der Blutproben bei Zimmertemperatur (n = 64)



Datenbeschreibung:

Gerade g_0 = Glucosekonzentration am Entnahmetag und nach Lagerung sind gleich.

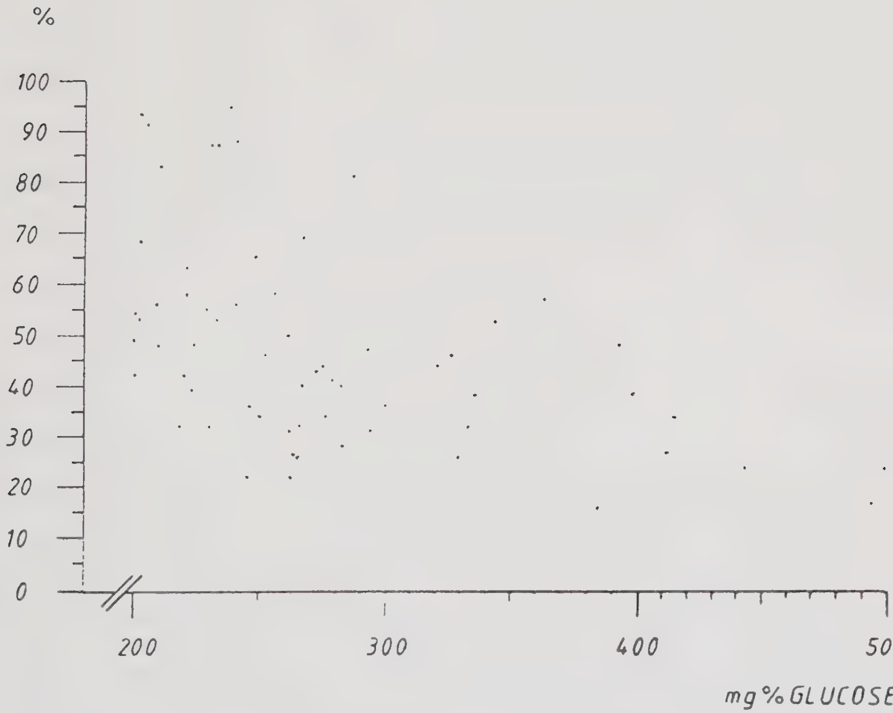
Die Geraden g_{50} bis g_{400} kennzeichnen die Glucoseabnahme in mg% nach 4-tägiger Lagerung, so daß z.B. die Blutproben, deren Blutzucker um 50 bis 100 mg% abgenommen hat, durch Punkte repräsentiert werden, die zwischen den Geraden g_{50} und g_{100} liegen.

Bei den übrigen 15 Blutproben, die am Entnahmetag Glucosekonzentrationen über 300 mg% aufwiesen, konnte in 8 Blutproben ein Rückgang in derselben Größenordnung festgestellt werden.
Ein geringerer Rückgang als um 50 mg% war in keiner Blutprobe zu verzeichnen.
In insgesamt 14 Blutproben konnte ein vermehrter Glucoserückgang von über 150 mg% innerhalb von 4 Tagen festgestellt werden. Darunter waren 6 Blutproben mit einem Rückgang der Glucosekonzentration über 200 mg%.

In Abbildung 4 erfolgte die Darstellung des Glucoserückgangs in Prozent des Ausgangswertes. Die Punkteverteilung in diesem Diagramm zeigt keine Häufung um einen bestimmten Prozentwert, so daß bei den hier beobachteten kein konstanter prozentualer Abfall des Glucosewertes angenommen werden kann. Die größten prozentualen Verluste an Glucose sind in den Blutproben mit einer geringeren Glucosekonzentration zwischen 200 mg% und 250 mg% festzustellen.
Der maximale Glucoserückgang betrug 95 % der Anfangskonzentration und der minimalste Verlust wurde mit 16 % vom Ausgangswert verzeichnet.

Ein Rückgang der Glucosekonzentration in Blutproben, bei denen keine Trennung von Serum und Blutkuchen erfolgte, wurde bereits von einigen Autoren beschrieben (16,41). Er kann nur verhindert werden, wenn den Blutproben eine Substanz zugesetzt wird, die den Stoffwechsel der zellulären Elemente des Blutkuchens hemmt.

Abb. 4 Relative Abnahme der Glucosekonzentration in % des Ausgangswertes



Den hier untersuchten Blutproben war keine stoffwechselhemmende Substanz zugefügt worden, da damit auch der Umbau von Glucose zu Äthanol durch Mikroorganismen unmöglich gemacht worden wäre. Somit kann der Rückgang der Glucosekonzentration bei fehlender Äthanolneubildung schon allein auf den Glucosestoffwechsel der zellulären Elemente des Blutkuchens zurückgeführt werden. Insbesondere der große prozentuale Rückgang in den Blutproben mit verhältnismäßig geringer Anfangskonzentration kann dadurch erklärt werden.
Bei einem konstanten Verbrauch von Glucose durch den Stoffwechsel von Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten in den unterschiedlichen Proben erscheint der prozentuale Verbrauch bei niedriger Glucosekonzentration höher.

2. Veränderung der Äthanolkonzentration

Die Ergebnisse der Äthanolkonzentrationsmessung nach der Entnahme und nach 4-tägiger Lagerung bei Zimmertemperatur sind in Tabelle 2 aufgelistet. Die angebenen Werte sind Mittelwerte aus den Doppelbestimmungen und es wurde nur eine auf zwei Stellen hinter dem Komma genaue Angabe gewählt, da die dritte Stelle hinter dem Komma durch Meßfehler zu sehr beeinflußt wird. In Abbildung 5 erfolgte die graphische Darstellung der in den Blutproben am Entnahmetag und nach 4-tägier Lagerung ermittelten Äthanolkonzentration.

Am Entnahmetag waren 59 von 64 Blutproben nach der obenbeschriebenen Methode frei von Äthanol.
Eine Blutprobe enthielt 0,01 ‰ Äthanol und in drei Blutproben wurden 0,02 ‰ gemessen. Konzentrationen in dieser Höhe können durch die endogene Äthanolsynthese entstehen. In einer Blutprobe wurde am Entnahmetag eine Äthanolkonzentration von 0,30 ‰ nachgewiesen. Am ehesten dürfte es sich hierbei um Trinkalkohol nach vorherigem Alkoholgenuß handeln, so daß diese Blutprobe eigentlich nicht in diese Untersuchung gehört.

Nach 4-tägier Lagerung konnte wieder in 59 Blutproben kein Äthanol nachgewiesen werden.
Vier Blutproben enthielten Konzentrationen in Höhe des sogenannten endogenen Alkohols und zwar zwei Blutproben mit 0,01 ‰, eine Probe mit 0,02 ‰ und eine Probe mit 0,03 ‰.
Die Blutprobe mit dem Trinkalkohol hatte nach der Lagerung eine Äthanolkonzentration von 0,29 ‰.
Wie oft und in welcher Höhe eine Veränderung der Äthanolkonzentration beobachtet wurde, ergibt sich aus Abbildung 6.

Tabelle 2

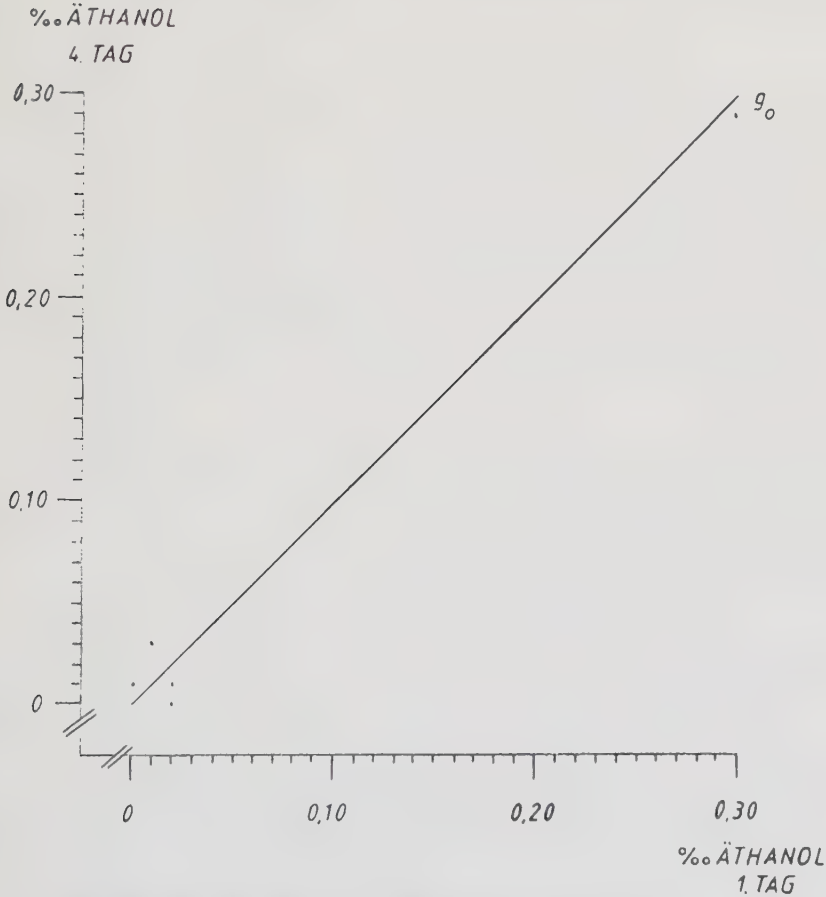
Äthanolkonzentration in den Blutproben des Versuchskollektivs, gemessen am Entnahmetag und nach 4-tägiger Lagerung bei Zimmertemperatur

Blut Nr.	Äthanol 1. Tag	Äthanol 4. Tag	Blut Nr.	Äthanol 1. Tag	Äthanol 4. Tag
1	0,00	0,00	33	0,00	0,00
2	0,00	0,00	34	0,00	0,00
3	0,00	0,00	35	0,00	0,00
4	0,02	0,01	36	0,00	0,00
5	0,00	0,00	37	0,00	0,00
6	0,00	0,00	38	0,00	0,00
7	0,00	0,00	39	0,00	0,00
8	0,00	0,00	40	0,00	0,00
9	0,00	0,00	41	0,01	0,03
10	0,00	0,00	42	0,00	0,00
11	0,00	0,00	43	0,00	0,00
12	0,00	0,00	44	0,00	0,00
13	0,00	0,00	45	0,00	0,00
14	0,00	0,01	46	0,00	0,00
15	0,30	0,29	47	0,00	0,00
16	0,00	0,00	48	0,01	0,00
17	0,00	0,00	49	0,00	0,00
18	0,00	0,00	50	0,00	0,00
19	0,00	0,00	51	0,00	0,00
20	0,00	0,00	52	0,00	0,00
21	0,00	0,00	53	0,02	0,02
22	0,00	0,00	54	0,00	0,00
23	0,00	0,00	55	0,00	0,00
24	0,00	0,00	56	0,00	0,00
25	0,00	0,00	57	0,00	0,00
26	0,00	0,00	58	0,00	0,00
27	0,00	0,00	59	0,00	0,00
28	0,00	0,00	60	0,00	0,00
29	0,00	0,00	61	0,00	0,00
30	0,00	0,00	62	0,00	0,00
31	0,00	0,00	63	0,00	0,00
32	0,00	0,00	64	0,02	0,00

ABB. 5 ÄTHANOLKONZENTRATION IM DIABETIKER-BLUT, GEMESSEN NACH BLUTENTNAHME UND NACH 6 TÄGIGER LAGERUNG BEI ZIMMERTEMPERATUR (n = 64)



Abb. 6 Vergleich zwischen der Blutalkoholkonzentration des Diabetikerkollektivs am Entnahmetag und nach 4-tägiger Lagerung bei Zimmertemperatur in den Fällen, bei denen eine meßbare Veränderung aufgetreten ist (n = 5)



Die oberhalb der Geraden g_o liegenden Punkte bedeuten Zunahmen in der Äthanolkonzentration, während die unterhalb der Geraden liegenden Punkte für Abnahmen stehen.

In einer Blutprobe, die bei der Entnahme keinen Äthanol enthielt, wurde nach Lagerung eine Konzentration von 0,01 ‰ ermittelt, während die übrigen 58 Blutproben nach wie vor keinen meßbaren Alkoholgehalt aufwiesen.

Bei den Blutproben, die bei Entnahme einen meßbaren endogenen Alkoholgehalt hatten, wurde nach der Lagerung einmal eine "Zunahme" von 0,01 ‰ auf 0,03 ‰ beobachtet. In einer Blutprobe mit endogenem Alkohol blieb der Äthanolwert mit 0,02 ‰ nach Entnahme und nach Lagerung konstant. In einer Blutprobe mit 0,02 ‰ nach der Entnahme wurde nach der Lagerung kein Alkohol mehr festgestellt.
Die Blutprobe mit dem Trinkalkohol von 0,30 ‰ zeigte eine Abnahme von 0,29 ‰.

Insgesamt wurden Alkoholkonzentrationensänderungen also in 5 von 64 Blutproben festgestellt. Läßt man die Blutprobe mit dem Trinkalkohol außer Acht, so wurden in den Blutproben von Diabetikern, die keinen Alkohol getrunken hatten, zwei Zunahmen in Höhe von 0,01 ‰ und 0,02 ‰ bei einer Gesamtzahl von 63 Blutproben beobachtet.
Genauso häufig wurden bei den 63 von Trinkalkohol freien Blutproben Abnahmen beobachtet, nämlich einmal um 0,01 ‰ und einmal um 0,02 ‰.
Eine Auswertung dieses Ergebnisses in dem Sinne, ob eine statistisch signifikante Änderung in den untersuchten Blutproben stattgefunden hat, kann nicht erfolgen. Dies liegt daran, daß statistische Tests, die eine solche Aussage ermöglichen, auf eine Verteilung der Meßwerte angewiesen sind.

Bei der Messung der Äthanolkonzentration konnte mit der vorbeschriebenen, routinemäßig eingesetzten, gaschromatographischen Methode in 58 von 63 Blutproben, die frei von Trinkalkohol waren, weder bei der Entnahme noch nach Lagerung ein Meßwert ermittelt werden. Das bedeutet, daß die in den Blutproben vorhandenen Äthanolkonzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze der Methode liegen.
Dadurch ergibt sich die Situation, daß der überwiegende Teil der Verteilung in einem Bereich liegt, über den man anhand unserer Messungen keine Aussage machen kann. Wenn nun, wie dies bei den Äthanolwerten unserer Blutproben der Fall ist, keine meßbare Wertverteilung festgestellt werden kann, dann kann auch kein statistischer Test durchgeführt werden.
Für eine statistische Aussage über die mögliche Höhe der Veränderung der Äthanolkonzentration gelten die obenstehenden Ausführungen in gleicher Weise.

Um ein statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten, könnte man den Versuchsaufbau so umgestalten, daß in jeder Blutprobe ein Meßwert für Äthanol bei der Entnahme feststellbar wird und damit eine Verteilung der Meßwerte erstellt werden kann. Dazu gibt es mehrere Möglichkeiten. Einmal könnte man den Versuchspersonen vor der Blutentnahme Äthanol (z.B. einen Schnaps) zu trinken geben, so daß mit der Routinemethode ein Äthanolwert ermittelt werden könnte. Dann gäbe es die Möglichkeit den Blutproben nachträglich Äthanol in einer bestimmten, ebenfalls routinemäßig feststellbaren, Konzentration zuzusetzen.
Diese beiden Möglichkeiten ein statistisch auswertbares Ergebnis zu erzielen, widersprechen der Aufgabenstellung der Arbeit die Äthanolneubildung in Nüchternblutproben zu untersuchen.

Weiterhin könnte man ein empfindlicheres gaschromatographisches Verfahren, wie es z.B. Sprung für seine Untersuchungen über den endogenen Alkohol benutzte, verwenden, so daß man auch bei trinkalkoholfreien Blutproben einen Äthanolwert, den endogenen Alkohol, als Ausgangswert hätte.

Das Ergebnis dieser Arbeit zeigt, auch wenn keine statistische Auswertung erfolgen kann, dennoch, daß es für eine Äthanolneubildung in Diabetikerblutproben, die keinen Trinkalkohol aufweisen, keinerlei Hinweise gibt. Die Veränderungen, die aufgetreten sind, liegen alle noch im Streubereich der Methode, so daß sie nicht als Äthanolneubildung gewertet werden können. In den übrigen Fällen, in denen keine Veränderung gemessen wurde, liegt eine Neubildung, wenn es sie gibt, unterhalb der Nachweisgrenze einer routinemäßig durchgeführten Gaschromatographie und ist damit forensisch nicht relevant.

V. DISKUSSION

Die Neubildung von Äthanol durch Mikroorganismen wird von vielen Autoren sowohl in der Leiche, im Leichenblut als auch in Frischblut beschrieben. Hauptausgangspunkt für eine solche Neubildung stellt die im Blut vorhandene Glucose dar (56).

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob es in Blutproben von Diabetikern, deren Blutzucker erheblich über der Norm liegt, innerhalb eines Zeitraumes, wie er üblicherweise zwischen Entnahme und Analyse liegt, zu einer forensisch bedeutsamen Äthanolneubildung kommt. Da bei der Blutentnahme prinzipiell die Möglichkeit einer bakteriellen Verunreinigung besteht und bei Diabetikern ein vorübergehendes Auftreten von Hefen im Blut diskutiert wird, konnte eine Äthanolneubildung vermutet werden. Die Untersuchung von Meyer (34) zeigt, daß es in Blutproben von stationär aufgenommenen Diabetikern innerhalb von 14 Tagen bei Zimmertemperatur zu einer Äthanolneubildung bis zu 0,31 ‰ kommen kann. Joachim et al. (14) beschrieben sogar eine noch höhere Äthanolneubildung bei entsprechender Besiedlung von künstlichen Diabetikerschweineblutproben innerhalb von 4 Tagen.

Auf eine vermehrte Neubildung von Äthanol bei hohen Glucosewerten hatten auch schon Bonnichsen et al. (4) sowie Weinig (54) und Lautenbach hingewiesen.

Das Ergebnis dieser Arbeit zeigt, daß es bei ambulant geführten Diabetikern, die in ihrer Handlungsfreiheit nicht eingeschränkt sind, trotz hoher Glucosewerte von über 200 mg% und obwohl eine sterile Aufbewahrung der Blutproben nicht erfolgte, keinen Hinweis für eine Äthanolneubildung innerhalb eines Zeitraumes von 4 Tagen gibt. Innerhalb dieses Zeitraumes

sind mit der Post verschickte Blutproben erfahrungsgemäß im Untersuchungslabor angekommen und gelangen zur Analyse. Sicher bedarf es noch weiterer Untersuchungen, um ein abschließendes Urteil abgeben zu können, da hier nur eine Lagerung bei Zimmertemperatur erfolgte. Damit bleibt unklar, welchen Einfluß höhere Temperaturen haben, wie sie bei Postversand durchaus vorkommen können (z.B. im Winter, wenn die Blutproben nahe der Heizung im Postwagen liegen oder bei starker Erwärmung durch Sonneneinstrahlung im Sommer).

Festzustellen bleibt immerhin, daß eine Äthanolneubildung in dem Umfang, wie sie Meyer (34) in den Blutproben von stationär aufgenommenen Diabetikern nach einer Lagerung von 14 Tagen bei Zimmertemperatur beobachtete, in den hier untersuchten Blutproben nicht zu verzeichnen war.
In den Fällen, in denen eine Veränderung über der Nachweisgrenze der obenbeschriebenen gaschromatographischen Methode gemessen werden konnte, lag diese noch innerhalb des Streubereichs dieser Methode und ist damit forensisch nicht interessant. Damit kann auch die von Joachim et al. (14) bei künstlichem Diabetikerschweineblut beobachtete beträchtliche Neubildung innerhalb von 4 Tagen für Diabetikerblut nicht bestätigt werden. Die von Schwerd (43), Stauber (47) und Joachim et al. (14) geäußerte Vermutung, daß im tierischen Blut eine geringere Neubildung als im menschlichen Blut stattfinde, kann durch die Ergebnisse dieser Arbeit nicht gestützt werden.

Ein Vergleich mit den Resultaten von Arbeiten, die die Veränderung des Äthanolgehaltes in unsteril gelagerten Frischblutproben von Nichtdiabetikern über einen kurzen Zeitraum untersucht, ergibt keinen wesentlichen Unterschied zu unsteril aufbewahrten Diabetikerfrischblutproben.

So beobachteten Paulus und Janitzki (38) innerhalb von 14 Tagen in zunächst alkoholfreien Frischblutproben von Nichtdiabetikern bei Zimmertemperatur eine nur geringfügig niedrigere Äthanolneubildung als Meyer (34) in alkoholfreien Diabetikerblutproben, die genauso lange bei Zimmertemperatur gelagert worden waren. Ebenso kann das Ergebnis dieser Arbeit mit den Untersuchungen von Schwerd und Hillermeier (46) verglichen werden. Sie beobachteten unter anderem die Veränderungen, die alkoholhaltige Blutproben von Nichtdiabetikern erfahren, wenn bei der Blutentnahme die Venüle nur teilweise gefüllt wird und das Restvakuum mit Luft ausgeglichen wird. Nach einer siebentägigen Aufbewahrung bei Zimmertemperatur fanden sie Differenzen gegenüber den Ausgangswerten, die zwischen + 0,01 ‰ und - 0,03 ‰ ausmachten und damit innerhalb des methodischen Fehlers der von ihnen benutzten gaschromatographischen Methode lagen. Größere Veränderungen konnten bei den hier untersuchten Blutproben auch nicht festgestellt werden. Bei höheren Temperaturen (40°C) registrierten Schwerd und Hillermeier (46) allerdings stärkere Änderungen, die zwischen + 0,07 ‰ und - 0,08 ‰ lagen. Der Einfluß höherer Temperaturen wurde hier nicht untersucht, so daß die Frage einer Äthanolneubildung in Diabetikerblutproben bei höheren Temperaturen noch nicht entschieden werden kann.

Inwieweit eine bakterielle Kontamination der untersuchten Blutproben stattgefunden hat, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht nachgeprüft werden. Trotzdem kann man davon ausgehen, daß bei einem nicht geringen Teil der Proben eine mikrobielle Besiedlung stattgefunden hat, da keine sterile Aufbewahrung der mit der Spritze gewonnenen Blute erfolgte.

Wie schon im Ergebnisteil dargestellt wurde, kann eine statistische Auswertung der Äthanolkonzentrationsmessung nicht durchgeführt werden. Dies liegt in erster Linie daran, daß zur Analyse der Äthanolwerte eine gaschromatographische Routinemethode eingesetzt wurde, die sowohl vor der Lagerung als auch nach der Lagerung in der Mehrzahl der Blutproben keinen Äthanolwert messen konnte. Damit fehlt eine für eine statistische Auswertung notwendige Verteilung der Meßwerte.

Da bei der Entnahme die Blutproben von Trinkalkohol frei sein sollten, wäre ein Meßwert bei der Entnahme nur mit einer sehr aufwendigen gaschromatographischen Methode, wie sie Bonte et al. (5) für die Analyse von Begleitstoffen beschrieben haben, zu erhalten gewesen. Damit hätte bei der Entnahme eine Verteilung der endogenen Alkoholwerte beim Diabetiker, ähnlich wie bei Sprung et al. (48) angegeben, ermittelt werden können. Ein Vergleich der Werte nach der Lagerung mit den endogenen Alkoholwerten und eine statistische Auswertung der Differenzen wäre dann möglich gewesen.

Ein solches Vorgehen hätte zwar zu einem statistisch auswertbaren Ergebnis geführt, aber in dieser Arbeit sollte die praktische Relevanz im Vordergrund stehen und deshalb wurde eine Routinemethode eingesetzt und nicht eine Methode, die für spezielle Fragestellungen entwickelt wurde.

Die Differenzen, die mit der von Bonte et al. (5) angegebenen Methode hätten ermittelt werden können, haben, wie man aus dem Ergebnis dieser Arbeit ersehen kann, keine praktische Relevanz, da sie überwiegend unterhalb der Meßganauigkeit der Routinemethoden liegen.

Was zur Frage des endogenen Alkohols anhand unserer Ergebnisse gesagt werden kann, ist, daß lediglich in fünf Blutproben ein Äthanolwert gemessen werden konnte, der als endogener Alkohol interpretiert werden kann. Bei der einen Probe mit 0,30 ‰ am Entnahmetag dürfte es sich nicht um endogenen Alkohol, sondern um Trinkalkohol nach Alkoholgenuß handeln.
Schon Kohberg (19) hatte bei interferometischen Analysen an Nüchternblut von Diabetikern mit 0,02 bis 0,04 ‰ endogene Alkoholwerte gefunden, die sich nur geringfügig von dem bei dieser Methode angegebenen Normalwert unterschieden. Bei der Untersuchung von 103 Diabetikerbluten mit der ADH-Methode fand Ullrich (49), ähnlich wie hier, fast ausschließlich Nullwerte. Als maximalen ADH-Wert konnte Ullrich (49) genau wie Paulus und Mallach (39) eine Konzentration von 0,06 ‰ angeben.
Da bei den von uns untersuchten Blutproben überwiegend bei der Entnahme kein Äthanolwert mit unserer Methode ermittelt werden konnte, kann vermutet werden, daß hier eine endogene Äthanolkonzentration in der von Sprung et al. (48) angegebenen Größenordnung (0,0008 ‰ maximal) vorliegt.

Ein Abfall der Glucosekonzentration, der in unseren Blutproben meistens zwischen 50 und 150 mg% betrug, kann in allen Blutproben, bei denen das Serum nicht von den zellulären Bestandteilen des Blutes getrennt wird, beobachtet werden, sofern keine Hemmstoffe des Glucosestoffwechsels hinzugefügt werden.
Kerti und Stengel (16) gaben beispielsweise einen beachtlichen Glucoseschwund von 200 - 300 mg% in verschlossenen, für 14 Tage bei Zimmertem-

peratur aufbewahrten Diabetikervollblutproben an. Einen prinzipiellen Unterschied zu unter gleichen Bedingungen gelagerten Vollblutproben von Nichtdiabetikern konnten sie nicht feststellen.

Nach Ruiter et al. (41) muß in Vollblutproben mit einem stärkeren Glucoseabbau gerechnet werden als im Serum, wenn keine Hemmstoffe des Glucosesoffwechsels hinzugefügt werden. Sie beobachteten innerhalb von 48 h in bei Zimmertemperatur gelagerten Serumproben nur geringfügige Veränderungen der Glucosekonzentration, während Vollblutproben bei derselben Temperatur erhebliche Glucoseverluste bis zu 170 mg% erfuhren.

Da ein Glucoseverbrauch zu Gunsten einer Äthanolneubildung in den hier untersuchten Blutproben nicht angenommen werden kann, muß der Glucoseverlust zum größten Teil auf den Glucosestoffwechsel der im Blutkuchen vorhandenen Zellen zurückgeführt werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Der Autor untersuchte die Blutproben von 64 ambulant therapierten, handlungsfähigen Diabetikern nach der Blutentnahme und nach einer 4-tägigen Lagerung bei Zimmertemperatur (20 ± 1° C) auf Veränderungen in Glucose- und Äthanolkonzentration.

Die Blutproben mußten bei der Blutentnahme einen Blutzuckerwert von mindestens 200 mg% aufweisen und sollten frei von Trinkalkohol sein.

Die Lagerungsdauer entsprach der maximalen Postversandzeit von Blutproben in die Untersuchungsstellen.

Zur Bestimmung der Äthanolkonzentration und der Glucosekonzentration wurden Routinemethoden herangezogen, da in diesem Zusammenhang nur Zunahmen der Äthanolkonzentration interessierten, die in der gerichtsmedizinischen Praxis von Bedeutung sind.

Obwohl eine sterile Lagerung der Blutproben nicht erfolgte und Glucose als Ausgangsstoff für eine Äthanolneubildung in hohen Konzentrationen in den Blutproben enthalten war, konnte weder bei der Entnahme noch nach Lagerung eine über der Nachweisgrenze der Methode liegende Äthanolkonzentration gefunden werden.

Die maximale Änderung in positiver Richtung wurde mit + 0,02 ‰ in einer Blutprobe mit einem anfänglichen Äthanolgehalt von 0,01 ‰ festgestellt.

Eine "Zunahme" in dieser Höhe kann auch bei einer Meßreihe mit einer 0,01 ‰-igen Äthanollösung durch den methodischen Fehler der Analyse beobachtet werden.

Die anfänglich hohen Glucosekonzentrationen nahmen um durchschnittlich 50 - 150 mg% innerhalb von 4 Tagen ab.

Eine Glucoseabnahme in dieser Höhe kann schon allein durch den Stoffwechsel der in den Blutproben vorhandenen Blutzellen erklärt werden.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1) Alha, A. R. :

Blood alcohol and clinical inebriation in Finish men. A medio-legal study. Helsinki Suomalainen Tiedeakatemia, (1951)

2) Bećhamp, J. :

Sur la preśence de l'alcool dans les tissus animaux pendant la vie et après la mort dans le cas de putréfication au point de vue physiologique et toxikologique.

C. r. Acad. Sci. 89, 573, (1879)

3) R. Bonnichsen, F. Halstrom, K.O. Moller und H. Theorell :

Development of ethanol in blood samples and human organs during forensic chemical practice.

Acta pharmacol. (Kbh) 9, 352, (1953)

4) Bonnichsen, R.K. und H. Theorell :

An enzymatic method for the microdetermination of ethanol.

Scand. J. clin. Lab. Invest. 3, 58, (1951)

5) Bonte, W., G. Stöppelmann, E. Rüdell u. R. Sprung :

Vollautomatischer Nachweis von Begleitstoffen alkoholischer Getränke in Körperflüssigkeiten.

Blutalkohol, 18, 303, (1981)

6) Bücher, Th. u. Redetzki, H. :

Eine spezifische photometrische Bestimmung von Äthylalkohol auf fermentativem Wege.

Klin. Wschr., 29, 615, (1951)

7) Corry, J.E. :

The possible sources of ethanol ante- and postmortem.

J. appl. bacteriol., 44, 1, (1978)

8) Elbel, H. :

Neues zur Blutalkoholfrage

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med., 30, 218, (1938)

9) Friedmann, T.E. u. R. Klaas:

The determination of ethyl-alcohol

J. biol. Chem., 115, 47, (1936)

10) Gochmann, N., Ryan, W.T., Sterling, R.E. u. Widdowson, G.M. :

Interlaboratory comparison of enzymatic methods for serum glucose determination.

Clin. Chem. 21, 356, (1975)

11) Gormsen, H. :

Alcohol production in the dead body.

J. forens. Med. 1, 314, (1954)

12) Harger, R.N. u. Goss, A.L. :

The so-called normal alcohol of the body.

Amer. J. Physiol. 112, 374, (1935)

13) Iffland, R. :

Zum Problem der Nachuntersuchung länger gelagerter Blutproben.

Blutalkohol 11, 189, (1974)

14) Joachim, H., Wuermling, H.-B. u. U. Wüst :

Die postmortale Enstehung von Äthanol im Diabetikerblut und -harn.

Blutalkohol 12, 217, (1975)

15) Kadish, A.H., R.L. Little u. J.C. Sternberg :

A new and rapid method for determination of glucose by measurement of rate of oxygen consumption.

Clin. Chem. 14, 116, (1968)

16) Kerti, F. u. F. Stengel :
Über Blutzuckerverteilung
Z. exper. Med. 88, 78, (1933)

17) Kisser, W. :
Die Methodik der automatischen gaschromatographischen Blutalkoholbestimmung.
Blutalkohol 12, 204, (1978)

18) Kisser, W. :
Zur Äthanolbestimmung in länger gelagerten Blutproben.
Beitr. gerichtl. Med. 36, 259, (1978)

19) Kohberg, L. :
Weitere Untersuchungen über Fehlerquellen bei der forensischen Alkoholbestimmung.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 15, 75, (1930)

20) Kohn-Abrest, E. u. Truffert, L. :
Procédé de recherche et de dosage de l'alcool dans le sang post-mortem. Quelques résultats.
Ann. méd. lég. Paris 17, 517, (1937)

21) Koneman, E.W. u. Davis, M.A. :
Post-mortem bacteriology. III. Clinical significance of organisms recovered at autopsy.
Amer. J. Clin. Pathol. 61, 28, (1974)

22) Krauland, W., E. Vidic, K. Freudenberg, B. Schmidt u. V. Lenk :
Über den Beweiswert einer zweiten Blutalkoholbestimmung an länger gelagerten Blutproben.
Dtsch. Z. gerichtl. Med. 50, 34, (1960)

23) Krauland, W., E. Vidic u. K. Freudenberg :
Über den Beweiswert einer zweiten Blutalkoholbestimmung an länger gelagerten Blutproben.
Dtsch. Z. gerichtl. Med. 52, 76, (1961)

24) Krebs, H.A. u. Perkins, J.R. :
The physiological role of liver dehydrogenase.
Biochem. J. 118, 635, (1970)

25) Landsberg, G. :
Über den Alkoholgehalt tierischer Organe.
Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 41, 505, (1904)

26) Lemmer, H. E. :
Blutalkoholbestimmung in faulem Blut.
Inaug.-Diss. Heidelberg, (1939)

27) Lester, D. :
The concentration of apparent endogenous ethanol.
Quart. J. Stud. Alcohol 23, 17, (1962)

28) Lundquist, F. u. H. Wolters:
The kinetics of alcohol elimination in man.
Acta pharmacol. et toxicol. 14, 265, (1958)

29) Machata, G. :
Über die gaschromatische Blutalkoholbestimmung.
Blutalkohol 4, 252, (1967)

30) Mebs, D. u. M. May :
Weiter Studien zur postmortalen Alkoholbildung.
Blutalkohol 17, 207, (1980)

31) Mebs, D., K. Schmidt u. J. Gerchow :

Experimentelle Untersuchungen zur postmortalen Alkoholbestimmung.

Blutalkohol 15, 145, (1978)

32) Mc Manus, R., Contag, A.O. u. R.E. Olson :

Studies on the identification and origin of ethanol in mammalian tissues.

J. biol. Chem. 241, 349, (1966)

33) Mc Manus, R., E. Brotsky u. R.E. Olson:

The origin of ethanol in mammalian tissues.

Biochem. Biophys. Acta 121, 167, (1966)

34) Meyer, J. :

Untersuchungen zur Neubildung von Äthanol in Blut und Urin von Diabetikern.

Inaug.-Diss. Mainz, (1980)

35) Nicloux, M. :

L'alcool dans le sang putréfié et chez le cadavre.

Bull. Soc.-Chim. biol. 18, 318, (1936)

36) Nicloux, M. :

Neóformation d'alcool éthylique dans le cadavre humain en voie de putréfication.

C. r. Soc. biol. (Paris) 121, 975, (1936)

37) Osterhaus, E. u. K. Johannsmeier:

Postmortale Entstehung von Alkoholen durch Fäulnis.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 57, 281, (1966)

38) Paulus, W. u. U. Janitzki :

Untersuchungen am Leichenblut nach Widmark und nach der ADH-Methode.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 48, 403, (1959)

39) Paulus, W. u. H.J. Mallach :

Untersuchungen von Diabetikern nach Widmark und nach der ADH-Methode.

Dtsch. Med. Wschr. 26, 1045, (1945)

40) Redetzki, H., K. Johannsmeier u. G. Dotzauer:

Fäulnis und Äthylalkohol.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 41, 424, (1952)

41) Ruiter, J., F. Weinberg u. A. Morrison :

The stability of glucose in serum.

Clin. Chem. 9, 356, (1963)

42) Sardesai, V. M. :

Biochemical and clinical aspects of alcohol metabolism.

Springfield, III : Thomas, (1969)

43) Schwerd, W. :

Die Beurteilung von Alkoholbefunden in Leichenblut.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 43, 221, (1954)

44) Schwerd, W., T. Dimmling u. J. Krebs :

Der Einfluß bakterieller Verunreinigungen auf den Alkoholgehalt länger gelagerter Blutproben.

Blutalkohol 4, 260, (1967)

45) Schwerd, W., T. Dimmling u. G. Kraneburg :
Über die Präsenzdauer verschiedener Arten vermehrungsfähiger Mikroorganismen in menschlichen alkoholartigen Vollblutproben und ihr Einfluß auf die Alkoholkonzentration.
Blutalkohol 9, 315, (1972)

46) Schwerd, W. u. I. Hillermeier :
Veränderungen des Alkoholgehaltes in Blutproben zwischen Entnahme und Untersuchung.
Blutalkohol 16, 453, (1979)

47) Stauber, O. :
Experimentelle Studien über das Auftreten von Methanol, Aethanol und Alkoholen mit mehr als 2 C Atomen bei Fäulnis.
Inaug.-Diss. Erlangen, (1953)

48) Sprung, R., W. Bonte, E. Rüdell, M. Domke u. C. Frauenrath :
Zum Problem des endogenen Alkohols.
Blutalkohol 18, 66, (1981)

49) Ullrich, B. :
Blutalkoholuntersuchungen bei Diabetikern nach Widmark und nach ADH.
Inaug.-Diss. Bonn, (1953)

50) Wagner, K. :
Über die Veränderlichkeit des Alkoholgehaltes von Leichenblut und nicht steril aufbewahren Blutproben.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 26, 276, (1936)

51) Weiler, G. u. H. Reh :

Der Beweiswert gaschromatographischer Blutalkoholbestimmungen bei Leichenfäulnis.

Blutalkohol 11, 402, (1974)

52) Weinig, E. :

Der Alkoholspiegel im Leichenblut

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 26, 293, (1936)

53) Weinig, E., W. Schwerd und L. Lautenbach :

Die Neubildung von Äthanol, Methanol und anderen Alkoholen im Leichenblut und ihre forensische Bedeutung.

Beitr. gerichtl. Med. 21, 114, (1961)

54) Weinig, E. u. L. Lautenbach :

Die Beurteilung von Alkoholbefunden in Leichenblutproben.

Blutalkohol 1, 222, (1962)

55) Widmark, E.M.P. :

Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung.

Berlin und Wien, (1932)

56) Wüstendörfer, L. :

Über die bakterielle Alkoholbildung aus Kohlehydraten, Eiweiß und Fetten.

Inaug.-Diss. Erlangen, (1953)

57) Yoshimoto, S. :

Über den Alkohol im Leichenblut.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 18, 35, (1932)

Für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung möchte ich Herrn Prof. Dr. Leithoff herzlich danken.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Dr. Haffner aus dem Institut für Rechtsmedizin für seine freundliche Beratung und Unterstützung.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. Herrmann und Mitarbeitern für die Messung der Äthanolkonzentrationen danken.

Ebenso danke ich den Allgemeinmedizinern Dr. Faust, Dr. König und Dr. Habighorst aus deren Patientengut die Mehrzahl der Probanden stammt.

Bei Herrn Dr. Schicketanz bedanke ich mich für die sorgfältige statistische Beratung.

LEBENSLAUF

Am 06.04.1958 wurde ich, Kurt Eckes, als erstes Kind des Postbeamten Kurt Eckes und seiner Ehefrau Käthe, geb. Gellweiler, in Düsseldorf geboren.

Von 1964 bis 1968 besuchte ich die Grundschule in Wallhausen und anschließend ein Gymnasium in Bad Kreuznach.
Nach dem Abitur immatrikulierte ich mich an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz im Fach Humanmedizin.
Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im Herbst 1979, den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung im Herbst 1980, den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung im Herbst 1982 und den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung im Herbst 1983.
Seit November 1983 bin ich als Assistenzarzt in der medizinischen Abteilung der Diakonie-Anstalten Bad Kreuznach beschäftigt.
Ich bin seit dem 29.07.1977 verheiratet und habe ein Kind.